

Flutamida: Revisão de suas propriedades farmacológicas e físico-químicas. Métodos de análise em formulações farmacêuticas

Flutamide: a review of its pharmacological and physico-chemical properties. Methods for analysis of pharmaceutical formulas

Hérica Regina Nunes Marona*, Madge Patrícia Betto Storti** e Vicente Alexandre De Lucca Neto***

Resumo

A flutamida, 2-metil-N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida, α,α,α -trifluoro-2-metil-4'-nitro-m-propionotoluidida ou 4'-nitro-3'-trifluorometilisobutiranilida, é um fármaco antiandrógeno não-esteróide, destituída de atividade hormonal, utilizada no tratamento do câncer avançado de próstata. Atua inibindo a ligação da testosterona ou da diidrotestosterona aos receptores nucleares e citoplasmáticos nas células-alvo. A flutamida é completamente absorvida pelo trato gastrointestinal, e rapidamente convertida em vários metabólitos. A ligação às proteínas plasmáticas é de 94% a 96%. O fármaco e seus metabólitos são excretados principalmente na urina. As principais reações adversas relacionadas ao uso da flutamida são a ginecomastia e a diarreia leve. Sob a forma de matéria-prima ou em formulações farmacêuticas, a flutamida pode ser determinada por métodos como polarografia, espectrofotometria, cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência. O presente trabalho discorre sobre as propriedades farmacológicas e físico-químicas da flutamida, bem como os métodos de análise aplicados à determinação do fármaco.

Palavras-chave: neoplasias prostáticas; flutamida; antiandrógenos; farmacocinética; terapia; efeitos adversos.

Abstract

Flutamide, 2-metil-N-[4-nitro-3-(trifluorometil)phenyl]propanamide, α,α,α -trifluoro-2-metil-4'-nitro-m-propionotoluidide or 4'-nitro-3'-trifluoromethylisobutyranilide, is a nonsteroidal antiandrogenic drug devoid of hormonal agonist activity, used in treatment of advanced prostate cancer. It inhibits the binding of testosterone or the dihydrotestosterone to nuclear and cytoplasmic receptors in target cells. Flutamide is completely absorbed from the gastrointestinal tract and rapidly converted to a variety of metabolites. Is 94% to 96% bound to plasma proteins. The parent drug and metabolites are primarily eliminated by the urine. The principal side effects are ginecomastia and diarrhea. In bulk or pharmaceutical dosage forms, flutamide can be estimated by polarography, spectrophotometry, gas chromatography and high performance liquid chromatography. The present communication reports pharmacological and physico-chemical properties of flutamide and analytical methods for its estimation.

Key words: prostatic neoplasms; flutamide; antiandrogen; pharmacokinetics; therapy; adverse effects.

* Departamento de Fármacos e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas -UNESP - 14801-902 - Araraquara - SP - Brasil

** Fundação Dr. Amaral Carvalho - 17210 080 - Jaú - SP - Brasil

*** Centro de Pesquisa e Pós-graduação - USC - 17011-160 - Bauru - SP - Brasil

INTRODUÇÃO

No mundo inteiro, o câncer de próstata ocupa o quinto lugar entre as neoplasias de maior mortalidade^{1,2}. No Brasil, estima-se que entre os tumores malignos que ocorreram no sexo masculino em 2002, o câncer de próstata teve a segunda taxa mais elevada de mortalidade e a segunda mais elevada de incidência, superado apenas pelo câncer de pele não melanoma³.

O planejamento terapêutico em pacientes com câncer de próstata é feito em função do estágio da doença e do grau de diferenciação histopatológica da neoplasia. Nos tumores localizados, a cura pode ser obtida através de cirurgia radical, denominada prostatectomia, ou de radioterapia, e nos tumores disseminados, a palição e o controle parcial da doença são conseguidos com o uso da orquiectomia ou hormonioterapia⁴.

Em 1941, Huggins e Hodges demonstraram a dependência androgênica dos tumores de próstata, o que, posteriormente, determinou como estratégia terapêutica a supressão hormonal através de orquiectomia ou de castração medicinal⁵. O bloqueio da testosterona promove a involução substancial do tumor, com significativa melhora dos sintomas clínicos.

As opções de tratamento atual para o carcinoma de próstata em estágio inicial incluem a prostatectomia, a radioterapia e a hormonioterapia⁶.

Atualmente, os tratamentos de câncer de próstata em estágio avançado podem ser realizados pelo decréscimo da produção de androgênio, através da administração de um estrógeno (estrogenoterapia) ou de um análogo do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH), como, por exemplo, a leuprolida ou a goserelina, que inibem a atividade testicular por via hipofisária. Emprega-se, também, a administração de um antiandrógeno, como a flutamida, que inibe a penetração ou a ação intracelular de testosterona nas células prostáticas, causando o bloqueio do crescimento do tumor⁷. A associação de flutamida e leuprolida apresentou-se benéfica em pacientes que apresentavam o câncer de próstata⁸.

Os antiandrógenos podem ser divididos em dois grupos, esteroidais e não-esteroidais, e são compostos utilizados com a finalidade de bloquear a ação dos esteróides androgênicos testiculares e adrenais nas células prostáticas, como forma alternativa de supressão endócrina. Os antiandrógenos esteroidais, como o acetato de ciproterona, são fármacos que não apenas competem com a testosterona e a diidrotestosterona pela ligação aos receptores andrógenos, mas também exercem ação progestática, inibindo parcialmente a liberação

hipofisária de hormônio luteinizante e a produção de testosterona, potencializando o seu efeito antitumoral^{9,10}.

A flutamida é um fármaco antiandrógeno não-esteróide, destituída de atividade hormonal, utilizada no tratamento do câncer avançado de próstata, como monoterapia ou em combinação com outros agentes. Foi o primeiro antiandrógeno não-esteróide, indicado para o tratamento do câncer avançado de próstata a ser comercializado no Brasil¹⁰.

Sob a forma de matéria-prima ou em formulações farmacêuticas, a flutamida pode ser determinada por métodos como polarografia, espectrofotometria, cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência.

PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

FARMACODINÂMICA

Os antiandrógenos são compostos desenvolvidos com a finalidade de bloquear a ação de androgênios de origem adrenal e testicular nos tecidos-alvo, sem reduzir os níveis de testosterona. Embora a orquiectomia, os estrógenos ou os agonistas LHRH promovam a redução de 90% a 95% na concentração de testosterona no soro, a concentração intraprostática da diidrotestosterona decresce apenas 50% a 60%, indicando que as adrenais são responsáveis por 40% a 50% da diidrotestosterona total na próstata do homem¹¹.

A flutamida e seus metabólitos, principalmente a 2-hidróxi-flutamida, atuam inibindo a ligação da testosterona ou da diidrotestosterona aos receptores nucleares e citoplasmáticos nas células-alvo; entretanto, estudos demonstram pequena correlação entre a afinidade relativa de ligação do fármaco aos receptores androgênicos e proliferação, o que sugere que seu efeito benéfico não se deve à interação direta com as células tumorais¹².

A afinidade da 2-hidróxi-flutamida ao receptor androgênico parece ser 20 vezes maior que a da flutamida⁷.

FARMACOCINÉTICA

A flutamida é completamente absorvida pelo trato gastrointestinal, e rapidamente convertida em vários metabólitos, sendo que o principal é a 2-hidróxi-flutamida.

A concentração plasmática máxima da flutamida,

bem como valores correspondentes da 2-hidróxi-flutamida, é atingida em 0,5 a 1,5 h após a administração de dose oral única de 250 mg. O *steady-state* é atingido 6 dias após o início da administração de 250 mg de flutamida, 3 vezes ao dia. A ligação às proteínas plasmáticas é de 94% a 96% para a flutamida, e 92 a 94% para a 2-hidróxi-flutamida¹⁴.

A flutamida e seus metabólitos são excretados principalmente na urina, tendo somente 4,2% da dose excretada nas fezes após 72 h. O metabólito encontrado em maior quantidade na urina é o 2-amino-5-nitro-4-(trifluorometil)-fenol. A meia-vida de eliminação é de 4 a 6,6 h após dose oral de 250 mg em pacientes com câncer de próstata, e de 8,1 h em pacientes geriátricos¹³.

TOXICOLOGIA

As principais reações adversas relacionadas ao uso da flutamida são a ginecomastia e a diarreia leve. Não há evidência de interferência nos parâmetros hematológicos ou hormonais. Elevações transitórias nos valores das transaminases hepáticas e da bilirrubina podem ocorrer.

A flutamida não apresenta os numerosos efeitos colaterais que limitam o uso dos antiandrogênicos esteróides, tais como a diminuição da libido, retenção hídrica, doenças tromboembólicas e problemas cardiovasculares. A libido e potência sexual são conservadas em 80% dos pacientes¹⁴⁻¹⁸.

EFICÁCIA TERAPÊUTICA

Atualmente, os tratamentos de carcinoma avançado de próstata podem ser realizados por quatro alternativas:

- orquiectomia, que é a retirada cirúrgica de parte do testículo que produz o hormônio e que reduz 90% da testosterona plasmática;
- estrogenoterapia, administração de um estrógeno que diminui o emprego de análogos do LHRH, como, por exemplo, a leuprolida ou a goserelina, que inibem a atividade testicular por via hipofisária;
- emprego de antiandrogênicos periféricos, como a flutamida, que inibem o bloqueio do crescimento do tumor, pela penetração ou a ação intracelular de testosterona nas células prostáticas⁷.

Desde o início da década de 1950, os urologistas têm conhecimento que o carcinoma de próstata responde

à manipulação hormonal pela castração cirúrgica ou pelo uso de dietilestilbestrol. Apesar de 50 anos de experiência com a terapia hormonal, ainda existem controvérsias em relação à duração do tratamento, à prática de monoterapia ou à utilização de antiandrogênio combinado ao uso de terapia hormonal intermitente, ou à combinação de terapia hormonal com quimioterapia¹⁹.

Estudos comparando a monoterapia androgênica com a orquiectomia, dietilestilbestrol e agonistas do hormônio liberador do hormônio luteinizante, demonstram taxas de sobrevida e eficácia similares. A monoterapia com antiandrogênicos é usualmente bem tolerada, com exceção da alta incidência de ginecomastia (34 a 100%), a qual, entretanto, é infreqüente quando a flutamida é usada em combinação com ambos os métodos de castração¹⁸.

Em estudo multicêntrico realizado por Crawford et al.⁸, foi observado que o bloqueio androgênico completo (agonista LHRH + flutamida) foi mais efetivo do que a monoterapia com um agonista LHRH. Neste caso, a terapia combinada aumentou o tempo de sobrevida livre da progressão da doença, assim como a duração média da sobrevida. Estudos recentes revelaram que a taxa de sobrevivência num período de 5 anos pelo uso do bloqueio androgênico máximo seria em torno de 2% a 3% superior, se comparada à supressão androgênica isolada²⁰.

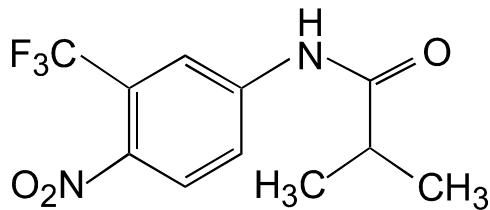
Há relatos também do uso da flutamida no tratamento da acne e do hirsutismo em mulheres²¹⁻²², e no tratamento da hiperplasia prostática benigna²³.

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

DESCRIÇÃO

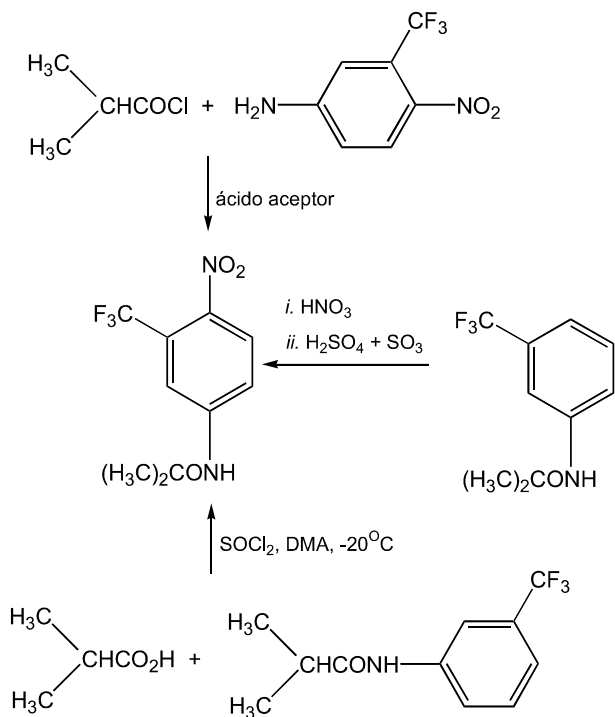
A flutamida, quimicamente denominada 2-metil-*N*-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida, 4'-nitro-3'-trifluorometilisobutiranilida ou α, α, α -trifluoro-2-metil-4'-nitro-*m*-propionotoluidida²⁴ (Figura 1), apresenta-se como pó cristalino amarelado, insolúvel em água, mas livremente solúvel em solventes orgânicos polares, como acetona, etanol, dimetilsulfóxido, acetato de etila, metanol e polietilenoglicol 400, e solúvel em clorofórmio, éter e propilenoglicol²⁵⁻²⁷. Apresenta fórmula molecular $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ (C = 47,83%; H = 4,02%; N = 10,14%; F = 20,63% e O = 17,38%) e massa molar igual a 276,22 g/mol.

Figura 1 - Estrutura química da flutamida.



SÍNTESE

Os métodos gerais descritos para a síntese da flutamida (Figura 2) são a reação de condensação, de para-nitração e a geração de cloreto ácido *in situ*²⁸.

Figura 2 - Síntese da flutamida por reações de condensação, para-nitração e formação de cloreto ácido *in situ*.

Na reação de condensação, cloreto de isobutanoila é adicionado lentamente, sob agitação, a uma solução resfriada de 4-nitro-3-trifluorometilânilina em piridina. A mistura reacional é, então, aquecida em banho de vapor e, posteriormente, resfriada em banho de gelo e

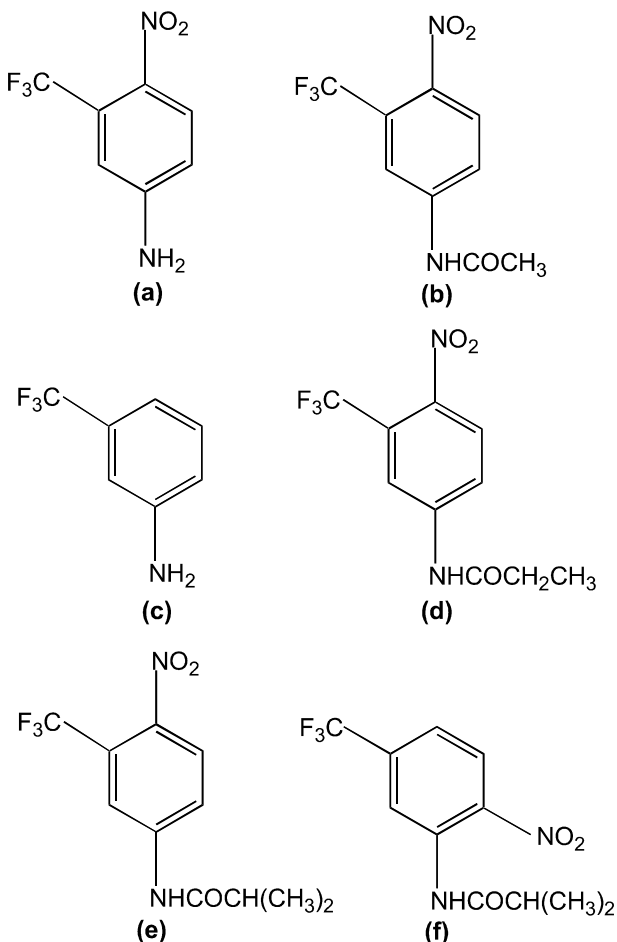
filtrada. O sólido é lavado com água e recristalizado em benzeno.

Um método alternativo é a reação de para-nitração, a qual consiste na adição lenta de ácido nítrico 90%, sob agitação a 5°C, a m-trifluorometilacetamida. A mistura é, então, filtrada e o produto formado é seco, após lavagem com água para remover o excesso de ácido.

Outro processo muito utilizado é a reação de cloreto de tionila em dimetilacetamida (DMA), a -20°C, para formar cloreto ácido *in situ*, o qual reage com 4-nitro-3-trifluorometilânilina para produzir a flutamida.

As principais impurezas encontradas na flutamida²⁶ (Figura 3) são a 4-nitro-3-(trifluorometil)anilina (a), N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]acetamida (b), 3-(trifluorometil)anilina (c), N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida (d), 2-metil-N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida (e) e N-[2-nitro-5-(trifluorometil)fenil]propanamida (f).

Figura 3 - Principais impurezas encontradas na flutamida.



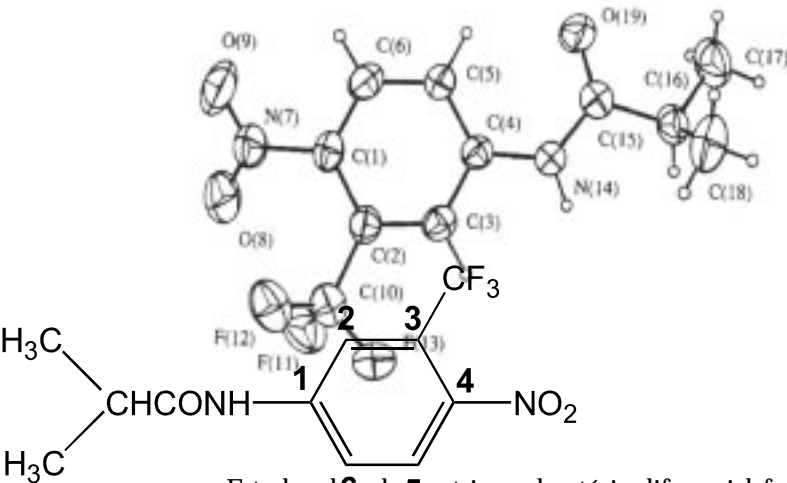
MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

MORFOLOGIA E POLIMORFISMO

A fotomicrografia da flutamida indica que as partículas do fármaco são alongadas, em forma de agulha, com tamanho individual na faixa de 25 μm ²⁸.

Cense et al.²⁹ determinaram a estrutura cristalina da flutamida através de estudo de difração de raios X. O estudo dos cristais, obtidos através da evaporação da solução saturada de flutamida em etanol, mostrou que a molécula é planar, contendo os grupos NO_2 , CF_3 e CH_3 , localizados fora do plano (Figura 4). As moléculas são interligadas por ligações de hidrogênio $\text{N-H} \cdots \text{O}$ e $\text{C-H} \cdots \text{O}$. Uma rede helicoidal de ligações de hidrogênio é formada pelas estruturas $\text{C-H} \cdots \text{O}$ inter e intramoleculares.

Figura 4 - Estrutura cristalina da flutamida.



Estudos de calorimetria exploratória diferencial foram empregados por Ceolin et al.³⁰, para a determinação de polimorfismo da flutamida. Apesar da evidência de polimorfismo não ter sido verificada através da cristalografia, o estudo do processo de recristalização, através da técnica de DSC, demonstrou a existência de um polimorfo metaestável, não isolado, o qual é rapidamente transformado na forma ortorrômbica, estável em temperatura ambiente.

COMPORTAMENTO TÉRMICO

Sternal & Nugara²⁸ descreveram o comportamento térmico da flutamida, como matéria-prima, através das técnicas de calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria. O termograma apresentou uma transição endotérmica, com temperatura onset de 111,5°C, correspondendo à fusão da substância. Na análise termogravimétrica, o termograma não exibiu perda de massa atribuída a solventes residuais, porém, exibiu uma perda de massa significativa, iniciando em,

aproximadamente, 120°C, o que foi atribuído à decomposição térmica do composto.

ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

O espectro de absorção na região do infravermelho da flutamida²⁸, em óleo mineral, apresenta as seguintes bandas atribuídas aos seus respectivos modos vibracionais (cm^{-1}): 3356 (s) ($\nu\text{N-H}$); 1717 (m) ($\nu\text{C=O}$); 1610 e 1597 (m) ($\nu\text{C=C}$); 1540 (m) (νNO_2); 1344 (s) (CF_3); 1315 (m) (NO_2); 1243 (m) ($\text{C-N}_{\text{amida}}$); 1137 (s) (CF_3); 903 e 862 (m) (anel benzênico 1,2,4-tri-substituído) e 754 (m) ($\text{C-N}_{\text{nitro}}$).

ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Os espectros de ressonância magnética nuclear da flutamida²⁸ foram obtidos em DMSO-d_6 . As atribuições numéricas referem-se à sua fórmula estrutural (Figura 5).

Figura 5 - Atribuições numéricas para a molécula da flutamida.

O espectro de RMN de ^1H apresenta deslocamentos químicos (ppm) em 1,13 (d) [$\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$] $J = 6,9$ Hz; 2,63 (m) [$\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$]; 8,17 (d) (H_5) $J_{\text{orto}} = 9,0$ Hz; 8,29 (d) (H_2) $J_{\text{meta}} = 2,2$ Hz; 8,06 (dd) (H_6) $J = 8,9$ e 2,2 Hz, e 10,62 (s) (NH). Os sinais (ppm) encontrados no espectro de RMN de ^{13}C estão em 19,1 [$\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$]; 35,2 [$\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$]; 117,1 (C_2); 122,0 (C_6); 127,6 (C_5); 126,1 (C_3); 123,4 (CF_3); 141,1 (C_1) e 176,4 (C=O).

ESPECTROMETRIA DE MASSAS

O espectro de massas da flutamida²⁸, obtido em DMSO , aponta os seguintes sinais: 355 ($\text{MH} + \text{DMSO}$)⁺; 277 (MH)⁺; 261 ($\text{MH}-16$)⁺ = O; 260 ($\text{M}-16$)⁺ = O; 247 ($\text{MH}-30$)⁺ = C_2H_6 ; 246 ($\text{M}-30$)⁺ = C_2H_6 ; 232 (*background*); 231 ($\text{MH}-46$)⁺ = NO_2 ; 207 (*background*); 191 ($\text{MH}-86$)⁺ = $\text{C}_3\text{H}_7\text{CONH}$; 190 ($\text{M}-86$)⁺ = $\text{C}_3\text{H}_7\text{CONH}$; 188 ($\text{MH}-89$)⁺ = C_3H_7 , NO_2 ; 187 ($\text{M}-89$)⁺ = C_3H_7 , NO_2 , e 175 ($\text{MH}-102$)⁺ = $\text{C}_3\text{H}_7\text{CONH}$, O.

MÉTODOS DE ANÁLISE

A monografia oficial da flutamida, descrita na USP²⁵, preconiza a identificação do fármaco através da equivalência do espectro infravermelho, obtido em óleo

mineral, com o espectro padrão. Alternativamente, a identificação pode ser realizada através da comparação do tempo de retenção do pico principal do cromatograma em CLAE, com o pico principal do padrão de referência USP.

O espectro da flutamida na região do visível/UV apresenta absorção máxima em 380 nm.

Vários métodos espectrofotométricos foram descritos para a determinação de flutamida em preparações farmacêuticas e na matéria-prima. Um método de determinação por espectrofotometria na região do visível, utilizando a formação de um composto colorido quando a flutamida é dissolvida em HCl, foi proposto por Zarapkar et al.³¹. O cromógeno, estável por uma hora, apresenta absorção máxima em 380 nm. A lei de Beer é observada na faixa de concentração entre 2,5 e 15,0 µg/mL. O método não sofre interferência de excipientes comuns, como amido e talco, e os baixos valores do desvio padrão e coeficiente de variação indicam a sua precisão e reprodutibilidade.

Nagaraja et al.³² desenvolveram um método baseado na interação do fármaco, na sua forma reduzida, com o reagente dicloridrato de N-naftiletildenodiamina em meio neutro, ou com o resorcinol em meio alcalino. A absorção dos cromóforos, estáveis por sete dias, foi medida a 525 e 480 nm, respectivamente. A lei de Beer é observada na faixa de concentração entre 0,1 e 7,0 µg/mL. O método não sofre interferência dos excipientes comumente utilizados nas formulações de flutamida, porém, outras aminas apresentam reação positiva nas condições utilizadas na reação de diazotização. Parâmetros estatísticos e estudos de recuperação foram aplicados para demonstrar a precisão e repetibilidade do método.

Murthy et al.³³ utilizaram método espectrofotométrico baseado na oxidação do fármaco com excesso conhecido de permanganato de potássio. A quantidade remanescente de permanganato de potássio foi determinada através da sua capacidade de oxidar o corante *Fast Green* FCF, sendo que o decréscimo na intensidade da cor da solução, proporcional à concentração da flutamida, foi medido em 625 nm. A faixa de concentração em que o método obedece a lei de Beer situa-se entre 0,2 e 1,6 µg/mL. Os excipientes comumente utilizados em formulações farmacêuticas não interferem no método, o qual foi validado com estudos de recuperação. O método aplica-se também à determinação de meloxicam e nimessulida, podendo ser aplicado à matéria-prima ou formulações farmacêuticas.

Reddy et al.³⁴ desenvolveram dois métodos para a quantificação da flutamida em formulações farmacêuticas ou em matéria-prima, baseados na reação do fármaco reduzido com o ácido cromotrópico (método A), com formação de cromógeno medido em 525 nm, e com o

resorcinol (método B), cujo cromógeno apresenta absorção máxima em 485 nm. A lei de Beer é obedecida entre 1,0 e 8,0 µg/mL para o método A e 1,0 e 5,0 µg/mL para o método B. Os resultados obtidos foram comparados com método de referência e estudos de recuperação confirmaram a sensibilidade e repetibilidade dos métodos propostos.

Rangappa et al.³⁵ empregaram o cloridrato de prometazina na presença de N-bromosuccinamida como reagente para a determinação da flutamida matéria-prima e em preparações farmacêuticas. O método exige processo extrativo com clorofórmio e o cromóforo, estável por quatro dias em temperatura de 25 ± 3°C, foi medido em 505 nm. O método obedece a lei de Beer na faixa de 0,25 a 15,0 µg/mL, não sofre interferência de excipientes e teve a sua precisão avaliada através de estudos de recuperação e análise estatística dos resultados.

Outros métodos descritos para a determinação da flutamida incluem a espectrofotometria na região do ultravioleta³⁵, a polarografia³⁶⁻³⁸, a cromatografia gasosa³⁹ e CLAE⁴⁰.

Alguns métodos foram descritos para a análise do fármaco em fluidos corporais e tecidos, dentre os quais podemos citar *mid-bore* cromatografia⁴¹ e CLAE⁴².

Agradecimentos: Ao CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990 [published erratum appears in *Int J Cancer* 1999 Dec 10;83(6):870-3]. *Int J Cancer* 1999;83(1):18-29.
2. Ferlay J, Parkin DM, Pisani P. *Globocan 1: cancer incidence and mortality worldwide*. Lyon: IARC; 1998.
3. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. Rio de Janeiro: INCA; 2002.
4. Srougi M, Dzik C. Câncer de próstata. In: Sociedade Brasileira de Urologia. Manual de normatização: câncer urológico. São Paulo: BG Cultural; 2000. p. 33-41.
5. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer I: the effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res* 1941;1:293-7.
6. Moul JW, Anderson J, Penson DF, Klotz LH, Soloway MS, Schulman CC. Early prostate cancer: prevention, treatment modalities, and quality of life issues. *Eur Urol* 2003;44(3):283-93.
7. Pratt WB, Ruddon, RW, Ensminger WD, Maybaum J. *Anticancer Drugs*. 2nd ed. New York: Oxford University; 1994.

8. Crawford ED, Eisenberger MA, McLeod DG, Spaulding JT, Benson R, Dorr FA, et al. A controlled trial of leuprolide with and without flutamide in prostatic carcinoma [published erratum appears in *N Engl J Med* 1989 Nov 16;321(20):1420]. *N Engl J Med* 1989;321(7):419-24.
9. Sociedade Brasileira de Urologia. Tumores prostáticos. In: *Consenso Brasileiro de Câncer de Próstata*, 1. 1998.
10. Srougi M. Câncer de próstata. In: Srougi M, Simon SD. *Câncer urológico*. São Paulo: Platina; 1990. p. 281-347.
11. Labrie F, Dupont A, Belanger A. Complete androgen blockade for the treatment of prostate cancer. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg AS. *Important advances in oncology*. Philadelphia: JB Lippincott; 1985. p. 193-217.
12. Brodgen RN, Chrisp P. Flutamide: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in advanced prostatic cancer. *Drugs Aging* 1991;1(2):104-15.
13. Radwanski E, Perentesis G, Symchowicz S, Zampaglione N. Single and multiple dose pharmacokinetic evaluation of flutamide in normal geriatric volunteers. *J Clin Pharmacol* 1989;29(6):554-8.
14. Balducci L, Parker M, Hescocock H, Tantranond P, Sexton W. Systemic management of prostate cancer. *Am J Med Sci* 1990;299(3):185-92.
15. Brodgen RN, Clissold SP. Flutamide: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in advanced prostatic cancer. *Drugs* 1989;38(2):185-203.
16. Delaere KP, Van Thillo EL. Flutamide monotherapy as primary treatment in advanced prostatic carcinoma. *Semin Oncology* 1991;18(6):13-8.
17. Boccon-Gibod L. Are non-steroidal anti-androgen appropriate as monotherapy in advanced prostate cancer? *Eur Urology* 1998;33(2):159-64.
18. Schroder FH. Antiandrogens as monotherapy for prostate cancer. *Eur Urology* 1998;34(3):12-7.
19. Richie JP. Anti-androgens and other hormonal therapies for prostate cancer. *Urology* 1999;54:15-8.
20. Dalesio O, van Tinteren H, Clarke M, Peto R, Schroder FH, Dechering I, et al. Maximum androgen blockade in advanced prostate cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2000;355(9214):1491-8.
21. Shaw JC. Antiandrogen and hormonal treatment of acne. *Dermatol Clin* 1996;14(4):803-11.
22. Young R, Sinclair R. Hirsuties II: treatment. *Austr J Dermatol* 1998;39(3):151-7.
23. Jonler M, Riehmman M, Bruskwewitz RC. Benign prostatic hyperplasia. *Drugs* 1994;47(1):66-81.
24. *The Merck Index*. 13th ed. Whitehouse Station: The Index Merck; 2001.
25. *The United States Pharmacopoeia*. 25th ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention; 2002.
26. *British Pharmacopoeia*. London: The Stationery Office; 2001.
27. *European Pharmacopoeia*. 3rd ed. Strasbourg: Council of Europe; 2001.
28. Sternal R, Nugara N. Flutamide. *Anal Profiles Drug Subst Exc* 2001;27:115-57.
29. Cense JM, Agafonov V, Ceolin R, Ladure P, Rodier N. Crystal and molecular structure analysis of flutamide. Bifurcated helicoidal C-H...O hydrogen bonds. *Struct Chem* 1994;5(2):79-84.
30. Ceolin R, Agafonov V, GonthierVassal A, Szwarc H, Cense JM, Ladure P. Solid-state studies on crystalline and glassy flutamide-thermodynamic evidence for dimorphism. *J Thermal Anal* 1995;45(6):1277-84.
31. Zarapkar SS, Damle CD, Halkar UP. Spectrophotometric determination of flutamide and its pharmaceutical formulation. *Indian Drugs* 1996;33(5):193-4.
32. Nagaraja P, Sunitha KR, Silwadi MF. New spectrophotometric method for the determination of flutamide in pharmaceutical preparations. *J Pharm Biomed Anal* 2000;23:617-22.
33. Murthy TK, Reddy MN, Reddy MD, Sankar DG. Spectrophotometric determination of flutamida, nimesulide and meloxicam. *Asian J Chem* 2001;13(3):915-8.
34. Reddy MN, Murthy TK, Reddy MD, Sankar DG. Spectrophotometric estimation of flutamide in pharmaceutical dosage forms. *Asian J Chem* 2001;13(3):1261-2.
35. Rangappa KS, Nagaraja P, Murthy KCS. New extractive spectrophotometric determination of flutamide in pure and pharmaceutical formulations. *Analytical Sci* 2000;16:637-9.
36. Alvarez-Lueje A, Pena C, Nunez-Vergara LJ, Squella JA. Electrochemical study of flutamide, an anticancer drug, and its polarographic, UV spectrophotometric and HPLC determination in tablets. *Electroanalysis* 1998;10(15):1043-51.
37. Snycerski A. Polarographic determination of flutamide. *J Pharm Biomed Anal* 1989;7(12):1513-8.
38. Snycerski A, Kalinowski MK. Electrochemical properties of flutamide, a new anticancer drug. *Polish J Chem* 1992;66(1):49-52.
39. Sane RT, Gangrade MG, Bapat VV, Sure SR. Gas chromatographic determination of flutamide, nimodipine and ticlopidine hydrochloride from their pharmaceutical preparations. *Indian Drugs* 1993;30:147-50.
40. Hendershot S, Koharski D. Appropriate column configurations for the rapid analysis and semipreparative purification of the radiolabeled drug flutamide by high-performance liquid chromatography. *J Chrom A* 2001;914:23-7.
41. Farthing D, Sica D, Fakhry I, Walters DL, Cefali EA, Allan G. Determination of flutamide and hydroxyflutamide in dog plasma by a sensitive high performance liquid chromatography method utilizing mid-bore chromatography. *Biomed Chromatogr* 1994;8(5):251-4.

42. Leibinger MK. New and validated high-performance liquid chromatographic method for determination of

hydroxyflutamide in human plasma. *J Pharm Biomed Anal* 1996;14:1377-81.